

報 告

不規則性抗体スクリーニングにおけるポリエチレングリコール
間接抗グロブリン試験の評価：プロスペクティブ研究

山口 富子 安田 広康 佐藤久美子
岩渕 伸枝 赤間 敏子 大戸 斉
福島県立医科大学医学部附属病院輸血・移植免疫部

(平成 10 年 10 月 8 日受付)

(平成 11 年 3 月 16 日受理)

EVALUATION OF THE POLYETHYLENE GLYCOL-INDIRECT ANTIGLOBULIN TEST
FOR ROUTINE ANTIBODY SCREENING : A PROSPECTIVE STUDY

T. Yamaguchi, H. Yasuda, K. Sato, N. Iwabuchi, T. Akama and H. Ohto

Division of Blood Transfusion and Transplantation immunology Fukushima Medical University

We prospectively evaluated the polyethylene glycol-indirect antiglobulin test (PEG-IAT) for its usefulness as a routine technique for screening unexpected antibodies against red cells. Sera of 999 consecutive patients obtained between December 1996 and March 1997 were tested by PEG-IAT in comparison with the saline, bromelain and albumin-indirect antiglobulin (Alb-IAT) methods.

Of 999 sera, 15 contained red cell antibodies. 9 of these were reactive with both the PEG-IAT and Alb-IAT methods. 4 of the remaining 6 sera were detected only by PEG-IAT, namely 3 anti-E and 1 warm-type autoantibody. 2 cold-type anti-Leb antibodies were detected by saline and Alb-IAT, but not by PEG-IAT.

PEG-IAT could clinically detect significant IgG-type antibodies such as anti-Rh or anti-Kidd, indicating its suitability as a routine test.

Key words : Polyethylene glycol indirect antiglobulin test (PEG-IAT) Irregular antibody screening

はじめに

ポリエチレングリコールを用いた間接抗グロブリン法 (Polyethylene glycol indirect antiglobulin test, PEG-IAT) は、赤血球不規則抗体を感度良く検出すると言われている^{1)~3)}。過去の妊娠や輸血によって、感作産生された抗体が検出感度以下に減弱することがあるため、抗体の検出感度を高めることは溶血性副作用を未然に防ぐ効果が大きいと期待される。我々は、遅発性溶血性輸血副作用を起こした患者血清の複数抗体が、アルブミン法 (Albumin indirect antiglobulin test, Alb-IAT) では検出されずに PEG-IAT でのみ検

出・同定された症例を経験した⁴⁾。これを機に、不規則性抗体スクリーニングに PEG-IAT を採用する価値があるか、他の方法と比較しながらプロスペクティブに評価した。

対象と方法

1996 年 12 月より 1997 年 3 月までの 4 カ月間に不規則性抗体スクリーニングの依頼のあった輸血予定患者 999 人の血清について、従来法の生理食塩水法、酵素 Bromelin 法 (ガンマ社)、Alb-IAT (アルブミン：オーソダイアグノスティックス、広範囲抗ヒトグロブリン：三光純薬) と PEG-IAT を使用し、結果を比較した。反応の強さはスコア

PEG-IAT method

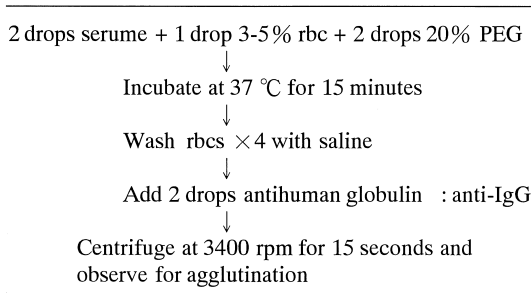


Fig. 1

化³⁾した。従来法の3法は成書⁶⁾に従い実施した。PEG-IATの手順はFig. 1に示した。なお、基礎検討でPEG溶液の添加量、4滴と2滴を比較したが、有意の差を認めなかったため2滴とした。用いたPEG溶液はAABBテクニカルマニュアル⁷⁾に従い自家調整した。即ち、Polyethylen Glycol (sigma社; MW 3350)をPBS (PH 7.3)にて20% (w/v)に溶解し、防腐剤としてアジ化ナトリウムを0.05% (w/v)添加した。

結果

1. PEG-IATとAlb-IATとの比較

999検体中PEG-IAT, Alb-IATともに陽性は9例(0.9%)、陰性は984例(98.5%)であった(Table 1-1)。両法間の結果に不一致がみられたのは6例(0.6%)で、うち4例はPEG-IATでのみ、2例はAlb-IATでのみ検出できた。不規則抗体スクリーニングで検出された抗体の内訳をTable 2に示す。両法で陽性であった9検体は、全てPEG-IATの方が強い反応を示した。特に、抗Jk^a抗体(case 7)は、力価が低下し、2週間後にはAlb-IATで陰性化したものの、PEG-IATでは約1月間長く持続的に検出された(以降、患者死亡により追跡不可)。また、PEG-IATだけで検出された4例のうち3例は低力価抗E抗体で、1例は温式自己抗体であった。一方、Alb-IATでのみ陽性であった2例は抗Le^b抗体で、どちらも生理食塩法で強く反応した。

2. PEG-IATと酵素(プロメリン)法との比較

PEG-IATとプロメリン法との結果に不一致がみられたのは4例(Table 1-2)で、抗E、抗Di^a,

Table 1-1 Comparison of sensitivity in antibody screening : PEG-IAT and Alb-IAT

		PEG-IAT		
		+	-	Total
Alb-IAT	+	9(0.9%)	2(0.2%)	11(1.1%)
	-	4(0.4%)	984(98.5%)	988(98.9%)
	Total	13(1.3%)	986(98.7%)	999

Table 1-2 Comparison of sensitivity in antibody screening : PEG-IAT and bromelin

		PEG-IAT		
		+	-	Total
Bromelin	+	9(0.9%)	0(0%)	9(0.9%)
	-	4(0.4%)	986(98.7%)	990(99.1%)
	Total	13(1.3%)	986(98.7%)	999

抗Jk^a、抗Le^aがPEG-IATでのみ検出された(Table 2)。また、間接抗グロブリン法が陰性で、プロメリン法だけが陽性となった抗体は1例もなかった。

考察

ポリエチレングリコール(PEG)は可溶性の中性ポリマーで、立体的排他現象により免疫複合体形成を促進させる反応増強剤として使われている¹⁾。近年、間接抗グロブリン法においてもPEGが使用され、感度、特異性及び凝集力ともAlb-IATより優れていると報告されている¹⁾。特に臨床的意義の高いIgG型のRh, Duffy, Kiddなどの弱い抗体を検出しようと言われている²⁾³⁾。

今回のプロスペクティブな検討からも、抗Eの3例、抗Jk^aの1例は、Alb-IAT法では陰性だったのに対し、PEG-IATでは検出可能であった。特に抗Jk^a抗体(case 7)に関しては、抗体産生初期にはAlb-IATでも検出されたが、2週間後に抗体価が減弱し、Alb-IATでは陰性と判定され、PEG-IATでは引き続き陽性であった。3例の抗E抗体はいずれも低力価で、うち1例はプロメリン法では陰性であった。一方、Alb-IATのみ陽性でPEG-IATでは検出できなかった2例は共に抗Le^b抗体であった。これらの2例は生理食塩法とプロメリン法でも強く反応する冷式抗体であった。以上

Table 2 Score of detected irregular antibodies

Case No.	Specificity	PEG-IAT	Alb-IAT	Bromelin # (score)
1	D	+#	+#	+
2	D	+#	+#	+
3	E	13	0	+
4	E	2	0	+
5	E	8	0	-
6	Di ^a	16	8	-
7	JK ^a	26	18	-
8	M	5	5	+
9	Le ^a	5	2	+
10	Le ^a	18	2	-
11	Le ^a	21	5	+
12	Le ^b	5	5	+
13	Le ^b	0	5	+
14	Le ^b	0	5	+
15	warm autoantibody	+#	-#	+
		9.9 ± 8.3	4.4 ± 4.8	
		(p < 0.05)		

not titrated

から PEG-IAT は、特に一次免疫応答で産生された抗体の減衰期にある低力価の IgG 抗体を検出するのに優れ、一方、Lewis などの冷式抗体は拾いにくい傾向があることがわかった。従って、不規則性抗体スクリーニングに PEG-IAT を導入することで、臨床的に意義のある低力価の抗体を見逃さずに溶血副作用を予防する効果が期待できると考えられる。

しかし、PEG-IAT は Alb-IAT に比べ偽陽性反応の発生率が 2 倍に増大すること¹⁾や、初期の IgM 抗体を検出しにくい⁸⁾などの欠点も指摘されている。今回の検討では、false positive となるような非特異的反応は認めず、日常の不規則性抗体スクリーニングに支障をきたすことはなかった。これは、クームス血清に抗補体成分抗体を含まない monospecific 抗ヒト IgG 血清を使用していることによると考えられる。また、PEG-IAT が陰性でプロメリン法陽性となった例は 1 例もなかった。この研究終了後も、PEG-IAT とプロメリン法を併用して不規則抗体を実施しているが、約 5000 件の検体でプロメリン法によってのみ検出される初期抗体には遭遇していない。

また、PEG-IAT のみで陽性となった抗体で、すべてのパネル血球に強く反応するものが 1 例

(case 15) があった。この抗体は自己血球で吸収後、陰性化したことより温式自己抗体と判定した。PEG-IAT は弱い温式自己抗体もよく検出する傾向がある⁸⁾。温式(自己)抗体が陽性の場合、同種抗体との鑑別、あるいは自己抗体+同種抗体の存在の鑑別が重要である。温式自己抗体を検出することで、自己免疫性溶血性貧血の早期診断、経過観察をするのにより鋭敏な指標として有用視されている⁹⁾が、その反面、輸血に際しての交差適合試験を困難にすることがある。Issitt ら⁹⁾は、自己抗体を吸収後は感度の良い PEG-IAT 法よりは、むしろやや感度の落ちる低イオン強度間接抗グロブリン法を用いる方が、輸血血液をより早く準備できると示唆している。いずれにしても、自己抗体、とくに特異性が同定できない場合、適合血を得ることは困難で、他の検査法とあわせた評価が必要とされる。

当病院では今回の結果から 1997 年 4 月より不規則性抗体スクリーニングに PEG-IAT を採用した。PEG-IAT では検出しにくかった IgM の抗 Lewis 抗体なども無視できないことから、交差適合試験は Alb-IAT で行っている。これらの 2 法を併用することでより抗体の検出感度を高められる。また、PEG-IAT は操作が簡便で、PEG 試薬も容易

に自家調整できるので、PEG 試薬原料 (1 本 (500 g)/年間) が約 5000 円で済み、アルブミン (約 250 本 (10 ml)/年間) 使用時と比べ経費を大幅に節約することができ、ルーチン検査のコストを削減できる点からも有用性が高い。

まとめ

1. PEG-IAT は、臨床的意義の高い抗体 (特に低力価の Rh, Kidd 系抗体) を感度よく検出したことより、これらの抗体による溶血副作用を予防する効果が大い。

2. また、PEG 溶液は簡単に安価で自家調整できるので、ルーチンに導入することでコスト削減の点からも有効である。

3. しかし、PEG-IAT は弱い温式自己抗体も検出しうるため、判定が困難になることもある。その際には、他法とのあわせた評価も必要である。

文 献

- 1) Wenz, B., Apuzzo, J., Shah, D. P. : Evaluation of the polyethylene glycol-potentiated indirect antiglobulin test. *Transfusion*, 30 : 318—321, 1990.
- 2) Shirey, R. S., Boyd, J. S., Ness, P. M. : Polyethylene

glycol versus low-ionic-strength solution in pre-transfusion testing : a blinded comparison study. *Transfusion*, 34 : 368—370, 1994.

- 3) Nance, S. J., Garratty, G. : A new potentiator of red blood cell antigen-antibody reactions. *Am J Clin Pathol*, 87 : 633—635, 1987.
- 4) 山口富子, 安田広康, 佐藤久美子, 赤間敏子, 加藤久美子, 岩淵伸枝, 大庭 敬, 大戸 齊, 阿部力哉 : 複数の抗体 (抗 C, 抗 e, 抗 Jka, 抗 P1 抗体) により短期間に 2 回連続して発症した遅発性溶血性輸血副作用. *日本輸血学会誌*, 43 : 869—900, 1997.
- 5) Technical manual, p 528—529, 1990, AABB.
- 6) 日本臨床衛生検査技師会, 輸血検査の実際, 1986.
- 7) Technical manual, p 558—559, 1990, AABB.
- 8) 大久保進, 宮本厚子, 石田萌子, 安永幸二郎 : 抗グロブリン試験 Polyethylene Glycol (PEG) 法の基礎的検討と抗赤血球自己抗体保有者患者における臨床的意義. *日本輸血学会誌*, 40 : 427—433, 1994.
- 9) Issitt, P. D., Combs, M. R., Bumgarner, D. J., Allen, J., Kirkland, A., Melroy-Carawan, A. : Studies of antibodies in the sera of patients who have made red cell autoantibodies. *Transfusion*, 36 : 481—486, 1996.